

**BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

**Offenlegungsschrift
DE 102 01 858 A 1**

**Int. Cl.⁷
C 07 H 21/00
C 12 Q 1/68**

(71) Aktenzeichen: 102 01 858,8
(72) Anmeldetag: 18. 1. 2002
(43) Offenlegungstag: 14. 8. 2003

(71) Anmelder:
Dr. Tittgen Biotechnologie, 32257 Bünde, DE

(74) Vertreter:
v. Bezold & Sozien, 80799 München

(72) Erfinder:
Tittgen, Jochen, Dr., 32257 Bünde, DE

Die folgenden Angaben sind dem vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(36) Rechercheantrag gem. Paragraph 43 Abs. 1 Satz PatG ist gestellt.
(37) Verfahren zur Trennung von Nukleinsäuren und Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens von anderen Zellbestandteilen beschreiben, bei dem das Nukleinsäure-Präparat durch eine Membran, die eine Lipid-Phase enthält, von anderen Zellbestandteilen getrennt wird, das die Innenfläche der Trennvorrichtung zu- mindest fast vollständig bedeckt.

N)

[0009] Dieses Trennungsvorgehen hat den Vorteil, dass es keine Zentrifuge notwendig ist. Allerdings ist es in den meisten Fällen unvorteilhaft, dass je nach verwendetem Filter, die Flüssigkeit nur langsam durchfließt oder sogar durch den Filter nicht fließen kann.

Filler versiept wird. Das führt zu Zeitverlusten. Der vom Anwender zu stellende Trichter kann des Weiteren kontaminiert sein und unerwartete bzw. unerwünschte Komponenten in die Präparation einschleppen. Außerdem ist oftmals ein passender Trichter nicht immer verfügbar.

3. Trennung durch Druckfiltration durch eine poröse Matrix [000101] Die Trennung der Lysatkomponenten erfolgt durch Filtration. Ein solches Verfahren ist beispielsweise in der WO 93/11218 beschrieben. Hierbei wird das Lysat nach Mischen mit einem Neutralisationspuffer in eine am Auslauf ver-

geschlossene Spritze geeigneter Größe eingefüllt, die im Bodenbereich eine durch zwei Pritten eingeschlossene Adsorbenzschicht aufweist. Nach einer 10 Minuten langen Inkubation, bei der sich der flockulente Niederschlag zum größten Teil an der Oberfläche der Flüssigkeit sammelt,

Dieses Verfahren hat den Nachteil, dass weitere

größerer Verpackungsaufwand notwendig und es fällt naturgemäß mehr Abfall an. Spritzenfilter sind sehr empfindlich gegenüber Überladung und verstopfen leicht. Daher muss der Anwender seine Kulturen sehr genau einstellen (Ermittlung der Zellzahl) um Überladungen zu vermeiden. Bei-

(00121) Die in bekannter Weise hergestellten klaren Lysate werden dann nach üblichem Vorgehen weiter aufgearbeitet. Überlagerungen können Teile von Zellräumen durch die Filtrationserschicht hindurchgedrückt werden. Durch die Filtrationserschicht geht immer ein gewisser Anteil an Lysat verloren.

00131 Es ist daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, mit dem die Nukleinsäuren nach der Trennung durch Chromatographie weiter aufgereinigt werden können. Nachfolgend wird ein Verfahren zur Aufreinigung von Nukleinsäuren beschrieben, das nach der Trennung durch Chromatographie, um die Nukleinsäuren weiter aufzureinigen, d. h. von anderen Bestandteilen, wie RNA, zu trennen.

ansäuen aus dem Zellsyst schnell und kostengünstig isoliert werden können, ohne dass eine aufwendige apparative Vorrichtung, wie beispielsweise eine Zentrifuge, notwendig ist. Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Vorrichtung zur Verfügung zu stellen, mit der auf einfache Weise eine Zellsuspension in einem Reaktionsgefäß

che, schnelle und kostengünstige Weise Nukleinsäuren aus Zellen isoliert werden können.

00015] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Trennung von Nukleinsäuren von anderen Zellbestandteilen durch Lyse der Zellen und Fällung der Lysatkomponenten, wobei die Nukleinsäuren in Lösung bleiben, das durch gekennzeichnet ist, dass das Lysat in einer Trennvor-

000161 Die Unteransprüche betreffen bevorzugte Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Verfahrens.

ung, die folgendes aufweist: eine Säule, ein Chromatogra-

philmaterial und ein in der Säule vorgesehenes Filtermaterial. Die Unteransprüche betreffen bevorzugte Ausführungsformen der erfindungsgemäßen Trennvorrichtung.

[00019] Fig. 1 zeigt ein Beispiel für eine erfindungsgemäße Trennvorrichtung.

[00020] Das erfindungsgemäße Verfahren ist in der Praxis einfach und zeitsparend durchzuführen. Von besonderem Vorteil ist, dass das Filtermaterial in einer Trennvorrichtung integriert ist. Auf diese Weise entbringt sich die Novamentherstellung/zertrümmerung eines Thrombektors für die Aufnahme des ungetriggerten Lysats in das erfindungsgemäße Trennverfahren.

[00021] Die in der erfindungsgemäßen Trennvorrichtung verwendete Trennvorrichtung kann praktisch jede Vorrichtung sein, die zur Trennung biologischer Bestandteile geeignet ist. In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird eine zylindrische Vorrichtung in Form einer Trennstäule verwendet.

[00022] Erfindungsgemäß bedeckt das Filtermaterial zumindest fast vollständig die Innenfläche der in diesem Verfahren verwendeten Trennvorrichtung bzw. der Trennstäule. Es ist wesentlich, dass möglichst viel Filterfläche vorhanden ist, um eine Filterwirkung auch zu den Seiten erfolgt.

[00023] Es ist bevorzugt, dass die gesamte Innenfläche der Trennvorrichtung bzw. der Trennstäule mit dem Filtermaterial bedeckt ist. Dazu wird beispielsweise das Filtermaterial eng an die Wandungen und am Boden der Trennstäule angelegt.

[00024] Im Prinzip kann jedes Filtermaterial in dem erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden, das in der Lage ist, die ausgefüllten Lysatkomponenten zurückzuhalten, und, vor allem, nur einen geringen Verlust an Lysatgehalt bewirkt. Als bevorzugtes Filtermaterial hat sich Filterpapier erwiesen. Als Beispiel kann hier ein handelsübliches Filterpapier für den Laborbereich genannt werden, wie beispielsweise Whatman Grade 5.

[00025] Erfindungsgemäß ist das Filtermaterial in der Trennvorrichtung, Proteine, etc. in den Kopf der Trennvorrichtung eingegeben und am Filtermaterial adsorbiert. Das klare, die Nukleinsäure enthaltende Lysat fließt durch das Filterpapier zum Boden der Trennvorrichtung.

[00026] In einer besonders bevorzugten Ausführungsform des vorliegenden Verfahrens fließt das klare, die Nukleinsäuren enthaltende Lysat am Boden der Trennvorrichtung auf eine Chromatographiekartusche. Auf diese Weise kann das klare Lysat chromatographiert werden, d. h. das praktisch reine Lysat mit der Abtrennung der Nukleinsäuren von den übrigen Zellbestandteilen. Das Lysat kann auch in einem Reagenzglas vorliegen, effektiv ausgetrennt werden können. Das bringt im Vergleich zu den herkömmlichen Verfahren eine beträchtliche Zeitersparnis, da der Zentrifugationschritt oder die Filtration zur Bildung eines isolierten klaren Lysats entfällt.

[00027] Das Chromatographiematerial, das in der Trennvorrichtung vorgesehen sein kann, ist normalerweise ein Dragmaterial, das mit Ionenaustauscherguppen modifiziert ist. Als Dragmaterial kann ein Kieselgel, wie es beispielsweise in der EP 0 744 025 beschrieben ist, verwendet werden. Es ist auch ein Polymerisatmaterial, das in der DE-OS 199 02 577 beschrieben ist, als Träger geeignet.

[00028] Der Träger kann mit einem Silanierungsreagenz umgewandelt sein. Als Silanierungsreagenz kann beispielsweise ein solches verwendet werden, das in der WO 91/05606 beschrieben ist. Ebenfalls können nach bekannten Verfahren an der stationären Phase Ionenaustauscherguppen oder Kationenaustauscherguppen angebracht werden. Ein Beispiel dafür ist in der obigen WO-Schrift beschreiben.

[00029] Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren lassen sich einfach und schnell aus biologischen Zellen durch Abtrennung der Zellbestandteile ein reines Lysat mit einer besonderen Ausführungsform wird das klare, die Nukleinsäuren enthaltende Lysat direkt in der Trennvorrichtung auf einen entsprechend modifizierten Dragmaterial chromatographiert, so dass eine Trennung von Nukleinsäuregemischen in DNA und RNA vorgenommen werden kann, wobei gleichzeitig die Nukleinsäuregemische hervorragend aufgereinigt und in höchster Reinheit isoliert werden können.

[00030] Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren kann jedes Nukleinsäuregemisch isoliert und ggf. getrennt werden. Beispiele für abzutrennende DNAs sind Plasmid-DNA, Phagen-DNA, rDNA, mRNA, hnRNA, tRNA, rRNA, Fragmentierte DNA, rDNA. In einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung eignet sich das erfindungsgemäße Verfahren ausgezeichnet beispielsweise zur Trennung von Plasmid-DNA aus Bakterienzellen, beispielsweise aus E.coli.

[00031] Die vorliegende Erfindung stellt ebenfalls eine Trennvorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Verfügung, bei dem isoliert und getrennt wird. In Fig. 1 ist ein Beispiel für eine solche Trennvorrichtung gezeigt. Die wesentlichen Bestandteile dieser Trennvorrichtung sind ein Zentrifugationsgefäß, ein Zentrifugationsgefäß, ein Zentrifugationsgefäß, ein Zentrifugationsgefäß und ein in der Säule vorgesehenes Filtermaterial 5. Die Säule weist einen nach unten verjüngenden Ausgang in Form einer Spitze zum Anlegen eines Vakuums auf. Vor dem Ausgang ist eine Unterfritte 2 vorgesehen, die mit dem Ausgang abschließt. Darauf ist das Chromatographiematerial aufgebracht. Zum Abschluss ist darauf eine Oberfritte 4 vorgesehen. Eine derartige Kunststoffsäule ist beispielsweise in der DE-OS 199 02 577 näher beschreiben. Unter 4 ist ein Zentrifugationsgefäß, das mit dem Filtermaterial 5 verbunden wird, um das klare Lysat zu sammeln.

[00032] Das Filtermaterial besteht aus einem Material sein, das zum Abfließen der ausgefällten Zellbestandteile geeignet ist. Bevorzugt ist das Filtermaterial ein Filterpapier, der in der Weise ausgestaltet ist, dass er eng an der Wandung und am Boden der Trennvorrichtung anliegt.

[00033] Geeigneterweise ist der Filterpapier gefaltet. Beispielsweise lässt sich ein derartiger Filterpapier herstellen, indem ausgehend von einem rechteckigen Stück Filterpapier ein am Boden verschlossener zylindrischer Körper gefaltet wird, der exakt in eine Trennstäule hineinpasst. Damit ist der Filter aus dieser Trennstäule auch nach Gebrauch wieder entnommen werden kann. Die Trennstäule ist in der Weise ausgestaltet, dass nach der Passage des Lysats der Filter einfach aus der Säule herausgezogen werden und im normalen Bioabfall entsorgt werden kann. Somit fallen keine zusätzlichen Plastikkomponenten und kein zusätzliches Verpackungsmaterial an.

[00034] Durch die Wahl eines geeigneten Filterpapiers, wie beispielsweise Whatman Grade 5 ist die Durchlaufzeit des Lysats durch die Säule mit integriertem Filter praktisch identisch mit der Durchlaufzeit eines durch Zentrifugation getrennten Lysats durch die filterlose Säule. Wenn das Lysat in einem Vakuum aus der Spitze nach unten in die Zentrifuge fließt, ist durch Anlegen an der Spitze nach unten ein Vakuum möglich ist, können sehr feintropfige Materialien verwendet werden, ohne die Geschwindigkeit herabzusetzen. Es hat sich herausgestellt, dass gerade durch das Chromatographiematerial schnellere Prozesszeiten und eine bessere Handhabbarkeit erzielt wird.

[00035] Wie bereits oben ausgeführt wurde, kann die erfindungsgemäße Trennvorrichtung auch in einer anderen Ausführungsform realisiert werden. In einer anderen Ausführungsform ist die Trennvorrichtung in Form einer Zentrifuge auszuführen. In dieser Ausführungsform ist die Trennvorrichtung in Form einer Zentrifuge auszuführen, bei der das Lysat in einer Zentrifuge mit einem Filtermaterial in der Trennvorrichtung auf einen entsprechend modifizierten Dragmaterial chromatographiert wird. In dieser Ausführungsform ist die Trennvorrichtung in Form einer Zentrifuge auszuführen, bei der das Lysat in einer Zentrifuge mit einem Filtermaterial in der Trennvorrichtung auf einen entsprechend modifizierten Dragmaterial chromatographiert wird. In dieser Ausführungsform ist die Trennvorrichtung in Form einer Zentrifuge auszuführen, bei der das Lysat in einer Zentrifuge mit einem Filtermaterial in der Trennvorrichtung auf einen entsprechend modifizierten Dragmaterial chromatographiert wird.

dungsgemäße Trennvorrichtung 1 ein Chromatogrammmaterial 3 am Boden der Stäule aufweisen. Das Chromatogrammmaterial unterliegt keinen besonderen Beschränkungen, mit der Maßgabe, dass es dafür geeignet ist, Nukleinsäuremischungen aufzutrennen. Beispielsweise kann das Chromatogrammmaterial ein Kieselgel sein, das in der EP O 744 025 beschrieben ist. Alternativ kann auch ein Mikrokieselmaterial, wie es aus der DE-OS 199 62 577 bekannt ist, verwendet werden. Das Chromatogrammmaterial ist jeweils mit beispielsweise Ionenaustauschergruppen modifiziert, die ihrerseits kationisch oder anionisch sein können.

Durch die Trennvorrichtung 1 können verschiedene Nukleinsäuregemische von den übrigen Zellbestandteilen abgetrennt werden und gleichzeitig mit ausgezeichnetem Auflösungs- und Reinheit erhalten werden. Hinsichtlich der Genäusung wird auf die vorangegangenen Ausführungen verwiesen. Die Trennvorrichtung ist beispielsweise hervorragend geeignet, um Plasmid-DNA aus Bakterienzellen, wie beispielsweise *E. coli* zu präparieren.

[0037] Die erfindungsgemäße Trennvorrichtung lässt sich in vorteilhafter Weise als Kit zusammen mit den für die Komplettaufklärung benötigten Puffern und ggf. anderen Reagenzien/Komponenten anbieten, um damit sehr praktisch in einem Schritt die Lysebestandteile aus der Reinheit und Entfernung isolieren und die Nukleinsäuren in der Reinheit und Entfernung aufzutrennen und isolieren.

[0038] Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele näher erläutert.

Beispiele

Beispiel 1

Anzucht der Bakterienkulturen

[0039] Für die Plasmidpräparationen werden *E. coli*-Kulturen entsprechend gängiger mikrobiologischer Praxis angezogen. Am Tag 1 erfolgt ein Vereinzelungsausschuss auf einen tieferen Stock-Kultur auf einem selektiven Medium (z. B. LB-Agar mit Ampicillin als Antibiotikum). Nach einer Übernachtinkubation bei 37°C auf dem Schüttler wird am Tag 2 eine gut gewachsene Einzelkolonie auf 50-300 ml Flüssigmedium (z. B. LB), dem das entsprechende Antibiotikum zugesetzt worden ist, inokuliert. Nach 16-20 Stunden Inkubation bei 37°C auf dem Schüttler beträgt die Zellkonzentration 200-300 mg/ml. Nach noch größere Kulturvolumina aufgeschossen oder die gesamte Kultur wird direkt abgeerntet. Im Falle des Ausstoßes wird die entsprechende mit Antibiotikum versetzte Menge an frischem Flüssigmedium mit 1% ihres Volumens mit der Kultur des Vorrates inokuliert und für eine weitere Übernachtinkubation bei 37°C auf dem Schüttler bei 200-300 rpm inkubiert.

[0040] Für eine Minipräparation werden 1-3 ml Menge Kultur mit High-Copy-Plasmid oder 5-20 ml Menge Kultur mit Low-Copy-Plasmid verwendet. Bei Mid- bzw. Maxiprepationen werden entsprechend größere Mengen verwendet.

Beispiel 2

Isolierung der DNA aus den Bakterien

[0041] Die in Beispiel 1 angegebene Menge Bakterienkultur für eine Minipräparation wird in einem geeigneten Zentrifugationsgefäß für 3 Minuten bei 13.000 × g abzentrifugiert und das überstehende Medium wird komplett verwor-

fen. Eventuell vom Rand des Zentrifugationsgefäßes zurückgewaschenes Medium wird mit der Pipette entfernt und ebenfalls verworfen.

[0042] Die pelletierten Bakterien werden durch Vortexen in 0,40 ml Puffer aus 50 mM Tris-HCl (pH 8,0)/10 mM EDTA/100 µg/ml RNase vollständig resuspendiert. Es dürfen keine Zellklumpen oder -aggregate mehr zu erkennen sein.

[0043] Die suspendierten Zellen werden durch Zugabe von 0,4 ml Puffer aus 200 mM NaOH/1,0% (w/v) SDS lyseriert. Die suspendierten Zellen werden mit dem Lysatpuffer durch mehrmaliges Invertieren gemischt bis eine homogene Phase entstanden ist. Diese Phase ist durch die ausgeerntete Plasmid-DNA sehr viskos. Es wird für maximal 5 Minuten in einem Vortexer gerührt.

[0044] Das Lysegemisch wird durch Zugabe von 0,4 ml Puffer aus 3,1-3,4 M Kaliumacetat (pH 5,5 mit Essigsäure) neutralisiert. Nach Zugabe des Puffers wird wiederum durch mehrmaliges Invertieren gemischt bis eine homogene Phase entstanden ist. Diese Phase ist jetzt wieder dünnflüssig. Es dürfen keine viskosen Reste des Zyllylstates mehr vorhanden sein.

Beispiel 3

Trennung der Bakterien-DNA

[0045] Eine Stäule mit Anionenaustauscher ("Telstar" von CHEMOTEC), die integriert mit einem neutralisierten Lysegemisch aus Beispiel 2 beladen und dieses durch das Anlegen eines Wasserstahl-Vakuum durch die Stäule vollständig durchgezogen wird. Die Vakuumpumpe bleibt hierbei so lange eingeschaltet, bis erkennbar keine Flüssigkeit mehr von der Stäule abgesaugt wird. Danach wird das Vakuum abgeschaltet und der Füller mit den Zellbestandteilen verworfen. Für die Entfernung ungeladener Bestandteile (z. B. RNA) wird die Stäule mit 100 ml 0,8 M NaCl (pH 8,0) gewaschen. Dazu wird der Puffer (pH 8,0) in die Stäule durch das Anlegen eines Wasserstahl-Vakuum durch die Stäule vollständig durchgezogen. Die Vakuumpumpe bleibt so lange eingeschaltet bis erkennbar keine Flüssigkeit mehr von der Matrix abgesaugt wird. Danach wird das Vakuum abgeschaltet.

[0046] Die Stäule wird von der Vakuumkammer abgelöst und die an die Membran gebundene Plasmid-DNA durch Zugabe von 0,8 ml Puffer 100 mM Tris-HCl (pH 8,5) 1/250 mM NaCl direkt in ein geeignetes Gefäß eluiert. Dazu wird die Stäule mit der Pipette und mit Hilfe eines passenden Stempels durch den Puffer in eine kleine Tropfenfolge, aber keinesfalls als Strahl durchgedrückt werden. Die einzelnen Tropfen müssen mit dem bloßen Auge noch zu erkennen sein.

[0047] Die Eluate werden mit 0,7 Vol. Isopropanol (Raumtemperatur) versetzt und gut gemischt. Die so präzipitierte Plasmid-DNA wird für mindestens 30 Minuten bei 13.000 × g und 4°C abzentrifugiert und der Überstand verworfen. Die pelletierte DNA wird einmal mit 80%igem Ethanol gewaschen, wieder abzentrifugiert, anschließend in 100 µl Wasser gelöst. Die Plasmid-DNA wird für oder im Vakuum und die Plasmid-DNA vollständig in einer geeigneten Menge TE-Puffer oder Wasser für 10 Minuten bei 37°C gelöst.

[0048] Die gelöste Plasmid-DNA wird spektrophotometrisch vermessen und auf einem Agarosegel analysiert.

[0049] Man erhält die Plasmid-DNA in einer deutlichen Bande ohne Verunreinigung mit RNA.

Patentsprüche

ansprüche 10 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass weitergehend eine O-bertritte (4) und eine Untertritte (2) aufweist.

19. Trennvorrichtung nach mindestens einem der Ansprüche 10 bis 18 zur Trennung von Plasmid-DNA aus Bakterienzellen.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

1. Verfahren zur Trennung von Nukleinsäuren von anderen Zellbestandteilen durch Lyse der Zellen und Fällung der LySATkomponenten, wobei die Nukleinsäuren in Lösung bleiben, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Lysat in einer Trennvorrichtung durch ein Filtermaterial filtriert wird, das die Innenfläche der Trennvorrichtung zumindest fast vollständig bedeckt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Trennvorrichtung eine Trennsäule ist.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Filtermaterial in Form von Ringen und am Boden der Trennsäule angelegt wird.
4. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass als Filtermaterial ein Filterpapier verwendet wird.
5. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Zellbestandteile am Filtermaterial adsorbiert werden und das klare, die Nukleinsäuren enthaltende Lysat durch das Filterpapier zum Boden der Trennvorrichtung fließt.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Filtermaterial die Nukleinsäuren enthaltende Lysat am Boden der Trennvorrichtung auf ein Chromatographiematerial fließt.
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass als Chromatographiematerial ein Trägermaterial verwendet wird, das mit Ionenaustauscherguppen modifiziert ist.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägermaterial ein Kieselgel oder ein Mikrogelasternaterial ist.
9. Verfahren nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche zur Isolierung von Plasmid-DNA aus Bakterienzellen.
10. Trennvorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach mindestens einem der vorangegangenen Ansprüche, die aufweist:
eine Säule (1),
ein Chromatographiematerial (3) und
ein in der Säule vorgesehenes Filtermaterial (5).
11. Trennvorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Säule (1) eine Kunststoffsäule ist.
12. Trennvorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Säule (1) nach unten verjüngt ist und einen Auslass in Form einer Spüle aufweist.
13. Trennvorrichtung nach mindestens einem der Ansprüche 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Chromatographiematerial (3) am Boden der Säule vorgesehen ist.
14. Trennsäule nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass das Chromatographiematerial (3) ein Kieselgel oder ein Mikrogelasternaterial ist, das jeweils mit Ionenaustauscherguppen modifiziert ist.
15. Trennvorrichtung nach mindestens einem der Ansprüche 10 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass das Filtermaterial (5) ein Papierfilter ist, das am Boden der Säule (1) anliegt und die Innenfläche zumindest fast vollständig bedeckt.
16. Trennvorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Papierfilter gefaltet ist.
17. Trennvorrichtung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Filter (5) in die Säule (1) einsetzbar und aus dieser herausnehmbar ist.
18. Trennvorrichtung nach mindestens einem der An-

Fig. 1

